ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 49, 2, 2015

УДК 597.553.2 : 577.115

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА НЕКОТОРЫХ ПАРАЗИТОВ БЕЛОГО ГОЛЬЦА (SALVELINUS ALBUS)

© И. И. Гордеев,[1], * Д. В. Микряков,[2] Н. И. Силкина[2]

[1] Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства
и океанографии (ВНИРО)
ул. Верхняя Красносельская, 17, Москва, 107140
* E-mail: gordeev_ilya@bk.ru
[2] Институт биологии внутренних вод им. Папанина РАН (ИБВВ РАН)
пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, 152742
Поступила 11.02.2015

У трех видов паразитов белого гольца оз. Кроноцкое: *Diphyllobothrium ditremum* Crepin, 1825 (Cestoda), *Philonema oncorhynchi* Kuitunen-Ekbaum, 1933 (Nematoda) и *Neoechinorhynchus salmonis* Ching, 1984 (Acanthocephala) проведено сравнительное изучение показателей липидного обмена, таких как содержание общих липидов, основных липидных фракций, уровня перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты. У скребней выявлен наиболее высокий уровень общих липидов, триацилглицеринов и малонового диальдегида, у нематоды — холестерина и эфиров стеринов, а у цестод — фосфолипидов и константы окисления субстрата. Выявлена зависимость показателей липидного обмена гельминтов от их таксономической принадлежности, морфофункциональных особенностей, стадии жизненного цикла и места локализации в организме хозяина.

Ключевые слова: Кроноцкое озеро, белый голец, паразиты, липидный обмен.

Озеро Кроноцкое, расположенное на п-ове Камчатка, образовалось около 10—15 тыс. лет назад, и экосистема озера в некоторой степени изолирована вследствие большого количества порогов на единственной вытекающей из него р. Кроноцкая. В озере постоянно обитают представители как минимум 3 видов (подвидов) гольцов— *Salvelinus albus* Glubokovksy, 1977, *Salvelinus schmidti* Viktorovsky, 1978 и *Salvelinus kronocius* Viktorovsky, 1978, которые заражены многочисленными паразитами. По сути в озере сложилась природная и перманентная эпизоотия, по-видимому, существующая с момента образования озера. В наибольшей степени выражена зараженность цестодой *Diphyllobothrium ditremum* Crepin, 1825, нематодой *Philonema oncorhynchi* Kuitunen-Ekbaum, 1933, скребнем *Neoechinorhynchus salmonis* Ching, 1984, а также трематодами *Crepidostomum metoecus*

Braun, 1900 и *Crepidostomum farionis* O. F. Muller, 1780 (Буторина и др., 2008). Подобные экосистемы, являясь результатом коэволюции хозяев и их многочисленных паразитов, представляют значительный интерес с точки зрения физиологии как рыб, так и их паразитов. Значительную роль в их жизнедеятельности играют липиды (Гершанович и др., 1991; Смирнов, Богдан, 2007). Процессы роста и развития паразитов в организме промежуточного хозяина связаны с изменением темпов и направлением липидного обмена. В организме инвазированных рыб происходят нарушения метаболических функций и, как следствие, физиологического состояния. В частности, установлена зависимость между темпами роста *Ligula intestinalis* Linnaeus, 1758 (Cestoda) и темпом и направлением липидного обмена, процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности тканей хозяина, а также зависимость происходящих изменений от стадии развития паразита (Микряков, Силкина, 2006; Силкина и др., 2012).

Цель данной работы — сравнительный анализ показателей липидного обмена некоторых паразитов белого гольца из оз. Кроноцкое.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования послужили паразиты белого гольца (*S. albus*), пойманного в Кроноцком озере, относящиеся к разным типам и классам: скребни — *N. salmonis* из кишечника, нематоды — *P. oncorhynchi* из полости тела и плероцеркоиды цестоды *D. ditremum* с поверхности висцеральных органов. Все образцы были отмыты в физрастворе и заморожены в жидком азоте в отдельных стерильных криопробирках. Сбор производили в июле—августе 2011 г. Число исследованных образцов указано в таблице.

Особенности липидного обмена оценивали по содержанию общих липидов (ОЛ) и их фракционному составу, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и уровню антиокислительной защиты.

Липиды из тканей паразитов экстрагировали и определяли гравиметрически стандартным методом по Фолчу (Folch et al., 1957). Фракционный состав липидов выявляли стандартными методами тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol» (Кейтс, 1972).

Об интенсивности ПОЛ судили по накоплению малонового диальдегида (МДА) — одного из конечных продуктов перекисного окисления. Концентрацию МДА определяли по количеству продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой и дающих с ней окрашенный комплекс. Интенсивность окрашивания оценивали спектрофотометрически по изменению максимума поглощения при 532 нм (Андреева и др., 1988). Содержание МДА вычисляли с учетом коэффициента молярной экстинкции МДА ($1.56 \times 10^5/М^{-1}$ $см^{-1}$) и выражали в наномолях на 1 г ткани.

Об общей антиокислительной активности судили по кинетике окисления субстрата восстановленной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола кислородом воздуха по общепринятой методике (Семенов, Ярош, 1985), адаптированной нами для рыб. Сущность метода заключается в том, что чем выше скорость окисления субстрата в присутствии биологического материала, тем ниже содержание антиоксидантов в тканях. Гомогенат получа-

Показатели липидного обмена паразитов гольца

Lipid metabolism indices of the white charr's parasites

Показатели	Виды паразита		
	N. salmonis (n = 6)	*P. oncorhynchi* (n = 7)	*D. ditremum* (n = 5)
Общие липиды, мг %	1415	1350	1310
Фракции липидов, %:			
фосфолипиды	55.23 ± 0.18	50.23 ± 0.13*	60.23 ± 0.18*, **
холестерин	6.96 ± 0.17	12.63 ± 0.12*	6.96 ± 0.08**
НЭЖК	2.76 ± 0.03	3.13 ± 0.08*	4.40 ± 0.05*, **
Триацилглицерины	24.06 ± 0.14	21.43 ± 0.08*	19.80 ± 0.11*, **
Эфиры стеринов	10.53 ± 0.18	12.10 ± 0.10*	8.13 ± 0.14*, **
Углеводороды	0.43 ± 0.06	0.46 ± 0.03	0.46 ± 0.03
МДА, нмоль/г	4.57 ± 0.00	3.18 ± 0.01*	3.10 ± 0.00*, **
КОС, л/мл × мин	3.83 ± 0.02	2.86 ± 0.01*	4.84 ± 0.00*, **

Примечание: * — достоверное отличие от *N. salmonis*, ** — достоверное отличие от *P. oncorhynchi*.

ли путем растирания тканей с физиологическим раствором в соотношении 1 : 1. Константу ингибирования окисления субстрата (КОС), являющуюся показателем антиокислительной активности ткани, определяли относительно контроля по формуле: $К_i = К_{кон} – К_{оп}/С$, где $К_{кон}$ и $К_{оп}$ — константы скорости окисления субстрата соответственно в контроле и в опыте; С — концентрация биологического материала в кювете.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по стандартным алгоритмам, реализованным в пакете программ (Statistica) с использованием t-теста ($p < 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для всех видов изученных паразитов сходной чертой биологии является наличие в жизненном цикле стадии, развивающейся в лососевых рыбах и различных пресноводных ракообразных. Однако есть и многочисленные различия, касающиеся прежде всего паразитирования в теле рыбы. Процеркоиды *D. ditremum* попадают вместе с планктонными копеподами в кишечник. Рачки перевариваются, а личинки из кишечника мигрируют в мышцы, стенку кишечника, брюшину, в жировую ткань, печень, икру, где они растут и вскоре инкапсулируются, превращаясь в следующую стадию — плероцеркоида. Таким образом, бóльшую часть своего присутствия в теле рыбы *D. ditremum* проводит в капсуле, ожидая, пока рыба будет съедена окончательным хозяином. *P. oncorhynchi* также попадает в тело рыбы с пресноводными ракообразными, однако мигрировав в полость тела, нематода претерпевает череду линек, развивается во взрослую стадию и начинает образовывать многочисленные личинки, которые выходят наружу вместе с икрой во время нереста и опять заражают пресноводных веслоногих ракообразных. *N. salmonis* паразитирует в пищеварительной системе, прикрепляясь к стенке кишечника с помощью хоботка.

Анализ материалов исследований свидетельствует, что липидный обмен *N. salmonis*, *P. oncorhynchi*, *D. ditremum* имеет черты сходства и отличия (см. таблицу). Максимальное накопление ОЛ отмечено у *N. salmonis*, а минимальное — у *D. ditremum*. Качественный состав отдельных липидных фракций у всех паразитов был одинаковым, но количественное соотношение их различалось. Содержание фосфолипидов (ФЛ) было относительно стабильным, поскольку они выполняют, как правило, структурную функцию и составляют основную массу биомембран. Максимальный уровень ФЛ отмечен у *D. ditremum*, а минимальный у *P. oncorhynchi*, что можно частично объяснить особенностями морфологии нематод, а именно мощной кутикулой и фиксированным количеством клеток. Отличия по содержанию холестеринов были наиболее значительны. Холестерины в организме паразитов присутствуют в двух формах: в форме спирта (ХС — свободный холестерин) и в форме эфиров стеринов (ЭХС — связанный холестерин). ХС является основным стеролом, играющим важную роль в обеспечении процессов нормального роста, развития и репродуктивности. В тканях *P. oncorhynchi* ХС было в 2 раза больше по сравнению с другими паразитами. Скорее всего, это связано с процессом активного формирования личинок. ЭХС также было больше в организме *P. oncorhynchi*. Содержание запасной формы липидов — триацилглицеринов (ТАГ) было количественно невысоким, что связано с тем, что они паразитируют в среде I порядка (полости тела хозяина — рыбе), где низкое парциальное давление кислорода. Необходимую энергию для жизнедеятельности паразиты получают главным образом за счет анаэробного расщепления углеводов, в то время как у рыб главным энергетическим материалом служат липиды. Триацилглицеринов больше накапливали *N. salmonis*. Количество неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) было невысоким, максимум отмечен у *D. ditremum*. Уровень углеводородов был у всех гельминтов практически одинаковым.

Окислительно-восстановительные процессы у исследованных паразитов протекали сходным образом, но выявлены отличия в интенсивности. Максимальный уровень процессов окисления липидов отмечен у скребней *N. salmonis*, о чем свидетельствует повышенное накопление одного из конечных продуктов переокисления липидов (МДА), а пониженный уровень АЗ у *D. ditremum* ввиду высокого уровня показателя КОС. Скорее всего, это результат обитания в химически активной среде кишечника хозяина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отличия показателей липидного обмена у паразитов разных классов связаны с жизненным циклом, локализацией в организме хозяина, а также с особенностями их анатомии. Исследуемые паразиты гольцов из оз. Кроноцкое отличались уровнем содержания общих липидов, количественным содержанием отдельных липидных фракций, уровнем протекания процессов перекисного окисления липидов и состоянием антиокисдантной системы, что отражает особенности их липидного обмена. У скребней отмечен более высокий уровень содержания общих липидов, триацилглицеринов и малонового диальдегида, у нематоды — холестерина и эфиров стеринов, а у цестод — фосфолипидов и константы окисления субстрата.

Список литературы

Андреева Л. И., Кожемякин Н. А., Кишкун А. А. 1988. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Лабораторное дело. 11: 41—43.

Буторина Т. Е., Шедько М. Б., Горовая О. Ю. 2008. Особенности экологии гольцов рода *Salvelinus* (Salmonidae) бассейна озера Кроноцкое (Камчатка) по паразитологическим данным. Вопросы ихтиологии. 48 (5): 652—667.

Гершанович А. Д., Лапин В. И., Шатуновский М. И. 1991. Особенности обмена липидов у рыб. Успехи современной биологии. 3 (2): 207—219.

Кейтс М. Техника липидологии. М.: Наука. 300 с.

Микряков В. Р., Силкина Н. И. 2006. Характеристика показателей перекисного окисления липидов в системе паразит—хозяин на примере *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea)—*Abramis brama* (L). Биология внутренних вод. 4: 63—66.

Семенов В. Л., Ярош А. М. 1985. Метод определения антиокислительной активности биологического материала. Украинский биохимимический журнал. 57 (3): 50—52.

Силкина Н. И., Микряков В. Р., Микряков Д. В. 2012. Характер изменения некоторых иммунофизиологических показателей зараженных плероцеркоидами *Ligula intestinalis* лещей *Abramis brama* на разных стадиях развития паразита. Изв. РАН. Сер. биол. 5: 567—571.

Смирнов Л. П., Богдан В. В. 2007. Липиды в физиолого-биохимических адаптациях эктотермных организмов к абиотическим и биотическим факторам среды. М.: Наука. 182 с.

Folch J., Lees M., Stenley G. N. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal's tissues. Journ. of Biological Chemistry. 226 (3): 497—509.

COMPARATIVE ANALYSIS OF LIPID METABOLISM INDICES IN SOME PARASITES OF THE WHITE CHARR (SALVELINUS ALBUS) FROM THE LAKE KRINOTSKOE

© I. I. Gordeev, D. V. Mikryakov, N. I. Silkina

Key words: Kronotskoe Lake, loach, parasites, lipid metabolism.

SUMMARY

Comparative study of lipid metabolism indices (total lipids, separate lipid fractions, level of the lipid peroxidation processes, and antioxidant protection) was carried out in three parasite species collected from the white char in the Lake Kronotskoe: *Diphyllobothrium ditremum* Crepin, 1825 (Cestoda), *Philonema oncorhynchi* Kuitunen-Ekbaum, 1933 (Nematoda) и *Neoechinorhynchus salmonis* Ching, 1984 (Acanthocephala). Acanthocephalans possessed significantly greater levels of total lipids, triacylglycerol, and malondialdehyde; nematodes, of cholesterol and sterol esters; and cestodes, in phospholipids and constants of the substrate oxidation. Dependence between lipid metabolism of helminths and their taxonomic affiliation, morpho-functional features, the stage of the life cycle, and the site of infection in the host are discussed.